

レファレンスセンター等関連会議 薬剤耐性菌

担当：国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター
鈴木里和、松井真理

- ◆ マルチプレックスPCRのトライアル結果について
発表者：大阪健康安全基盤研究所 河原 隆二 先生
- ◆ 各ブロックレファレンスセンター報告
発表者：各ブロックレファレンスセンター担当者
- ◆ 平成29年度活動報告及び平成30年度活動予定
発表者：国立感染症研究所薬剤耐性研究センター 松井真理
 - ・ 薬剤耐性菌検査に関する研修
 - ・ 陽性コントロール配布
 - ・ NESID病原体サーベイランスについて
 - ・ 薬剤耐性菌検査に関する問い合わせ（事例紹介）
 - ・ その他連絡事項など

平成30年度 薬剤耐性菌検査に関する研修

NEW

①基本コース	②実践コース	③タイピングコースI*	④タイピングコースII*
<p>2.5日 9月11日（火） 9:00～ 13日（木）～12:30</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 薬剤耐性菌検査の基本 ・ 国内で分離が多い遺伝型株や典型的な表現型の株の判定 <p>耐性菌検査は初めて... 基本を知りたい</p>	<p>1.5日 9月13日（木） 13:00～ 14日（金）～16:00</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 国内で分離が稀な遺伝子型株や非典型的な表現型株の判定 <p>既に検査を実施している 以前に研修参加したが、 情報をアップデートしたい</p>	<p>1.5日 9月19日（水） 9:00～ 20日（木）～12:30</p> <p>パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）によるタイピング手法とその解釈</p> <p>タイピング解析方法を知りたい</p>	<p>1日（1泊2日） 9月20日（木） 13:00～ 21日（金）～13:00</p> <p>プラスミドゲノムのデータの解釈</p> <p>プラスミド解析方法を知りたい GPATを活用して、学会・論文発表したい</p>

*タイピングコースI, IIは連続参加可能

陽性コントロールDNA・菌株送付

- **陽性コントロールDNA 一斉送付**

平成29年度 73施設

(平成27年度、28年度：各63施設 あわせて77施設に送付済)

⇒ 平成30年度も研修終了後に送付予定

- **陽性コントロールDNA 追加送付**

平成29年度 8施設

内容：CRE検査用（一斉配布と同じ遺伝子型）

バンコマイシン腸球菌（VRE）、薬剤耐性アシネトバクター検査用

⇒ 随時発送可能 taiseikin@niid.go.jp まで

- **陽性コントロール菌株送付**

平成29年度 15施設

内容：IMP-1, IMP-6

CTX-M-1型, CTX-M-2型, CTX-M-9型, TEM型, SHV型, CIT型

⇒ 随時対応可能（書類手続き約2カ月）

taiseikin@niid.go.jp まで

NESID病原体検出情報システムへのCRE検査結果報告

平成29年3月28日 健康局結核感染症課長通知

「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症等に係る試験検査の実施について」

検査結果については、NESIDの病原体検出情報システムを通じて・・・厚生労働省に報告する

薬剤耐性菌レファレンスセンターにて、入力マニュアルを作成

- 検査結果を『特記すべき生化学性状等』欄に半角英数でテキスト入力（検査未実施は*入力）
- 入力支援ツール（大阪健康安全基盤研究所 河原先生作成）も併せて配布

2017年検体採取分の検査結果入力依頼・結果集計

7月6日 シンポジウムI ①薬剤耐性菌の分離状況と耐性機序（鈴木里和）にて結果を発表

S	BT	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
結果3	特記すべき生化学的性状等												
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	検出病原体その他内容	Formal	特記すべき生化学的性状等	IMP	NDM	KPC	OXA-48	MB	BA	VIM	GES	IMI
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-	Escherichia coli	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-	Enterobacter aerogenes	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-	Enterobacter aerogenes	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IMP1;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-	Enterobacter aerogenes	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES-;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM*	Enterobacter cloacae	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	+	-	-	-	+	-	-	-	*
	IMP+;NDM-;KPC-;OX48-;MB+;BA-	Enterobacter aerogenes	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM*;GES*;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM-	Serratia marcescens	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-	Escherichia coli	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
	カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP型、NDM型、KPC型、OXA-48型) 陰性	Enterobacter cloacae	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
	IMP-;NDM-;KPC-;OX48-;MB-;BA-;VIM-;GES*;IMI*;KHM*;SMB*;CaNP*;CIM*	Serratia marcescens su	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
	IMP-1/2 VIM-2 NDM-1 KPC OXA-48遺伝子は不検出	Serratia marcescens su	1	IMP-NDM-KPC-OX48-MB-BA-VIM-GES-KHM-SMB-CaNP-CIM-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

プログラムで項目ごとに集計

NESID今後の予定

- 2017年検体採取分（今回の集計結果）
 - ⇒ IASR公表予定
 - 4月24日以降に追加入力いただいた検体 順次精度管理予定
- 2018年検体採取分 順次集計予定
 - ⇒ 1月～3月分離検体：7月～ 精度管理問い合わせ予定
- 精度管理問い合わせ対象項目
 - 入力形式が異なるもの
 - 海外型カルバペネマーゼ遺伝子陽性かつ渡航歴無し（シーケンスをお願いします）
 - 遺伝子検査と表現型不一致（必須試験項目対象）

検査に関する問い合わせ

β-ラクタマーゼ遺伝子シーケンスについて

- β-ラクタマーゼ遺伝子シーケンス型別の標準配列は？ (GenBank accession No.)

<http://www.lahey.org/Studies/> (現在は更新終了)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/beta-lactamase-data-resources/>

$bla_{IMP-1} \Rightarrow S71932$

$bla_{IMP-6} \Rightarrow AB040994$

$bla_{NDM-1} \Rightarrow FN396876$

$bla_{NDM-5} \Rightarrow JN104597$

$bla_{KPC-2} \Rightarrow AY034847$

$bla_{OXA-48} \Rightarrow AY236073$

- β-ラクタマーゼ遺伝子の表記方法は？

PCR検出のみ、シーケンス型別未実施

例) IMP型β-ラクタマーゼ遺伝子、IMP-1型β-ラクタマーゼ遺伝子 など

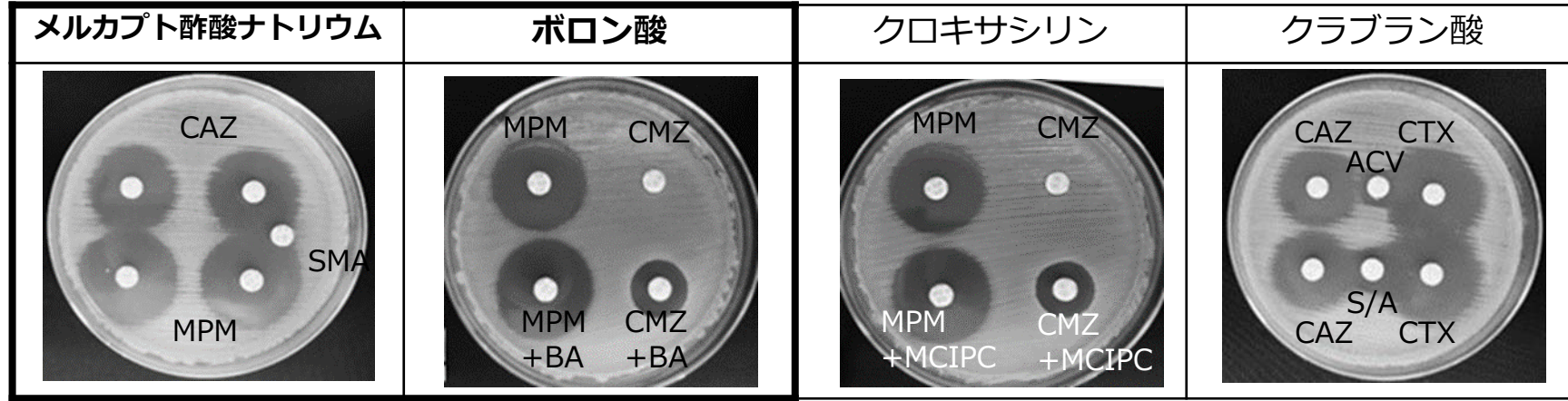
シーケンス型別を実施した場合

例) IMP-1 β-ラクタマーゼ遺伝子、IMP-6 β-ラクタマーゼ遺伝子 など

検査結果問い合わせ例①

KPC型カルバペネマーゼ産生株？

<医療機関からの情報> 菌種：*Klebsiella pneumoniae*
 CRE判定基準を満たす薬剤：イミペネム&セフトザゾール



陰性

陽性

陽性

陰性

(ディスク法の写真は
感染研実施分)

カルバペネマーゼ遺伝子		カルバペネマーゼ以外のβ-ラクタマーゼ遺伝子	
IMP型	-	CTX-M-1 group	
NDM型	-	CTX-M-2 group	
KPC型	+	CTX-M-9 group	
OXA-48型	-	MOX型	-
VIM型		CIT型	-
GES型		DHA型	-
IMI型		ACC型	-
KHM型		EBC型	-
SMB型		FOX型	-

Carba NP test: 陰性 (感染研実施)

mCIM: 陰性 (感染研実施)

PCR法でKPC型陽性、表現型はAmpC

→ 菌株分与を依頼し、感染研で再検

PCR KPC型陰性

菌種再同定 *Enterobacter aerogenes*

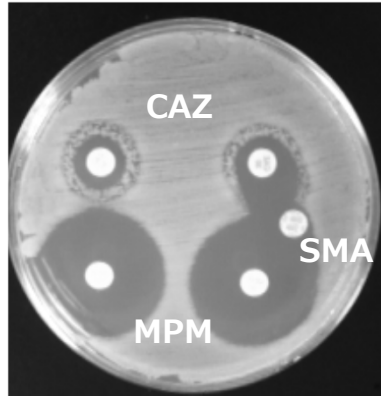
***E. aerogenes*では、KPC型非特異バンドが出現する株があるようです(問い合わせ数件あり)**



検査結果問い合わせ例②&③

IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株？

事例② *Escherichia coli*



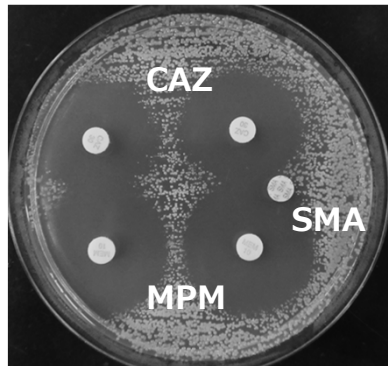
IMP-1型検出用プライマーPCR：陽性（+）

SMAディスク法：陰性（-）



⇒ IMP型遺伝子シーケンス（IMP-1 allプライマー増幅産物）の結果、IMP型β-ラクタマーゼ遺伝子ORF中に挿入配列あり！

事例③ *Serratia marcescens*



IMP-1型検出用プライマーPCR：陽性（+）

SMAディスク法：陰性（-）

mCIM：陰性（-）



⇒ IMP型遺伝子シーケンスの結果、*Serratia marcescens*の染色体遺伝子（PCR非特異バンド）であった

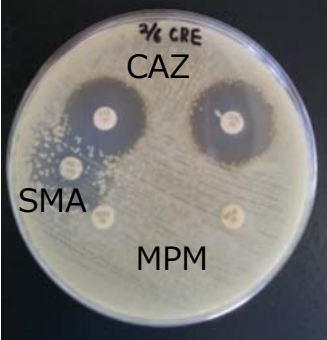
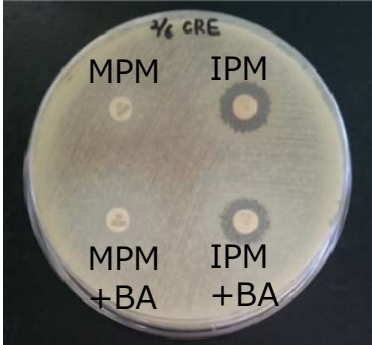
遺伝子型と表現型に矛盾がある場合は、シーケンス、別プライマー（multiplex用など）など、必ず確認をお願いします。

検査結果問い合わせ例④

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌？

<医療機関からの情報>

菌種：Serratia sp. mCIM陽性

メルカプト酢酸ナトリウム	ボロン酸	クロキサシリン	クラブラン酸
			
陰性	陰性		

Carba NP test:

mCIM: **陽性 (6mm)**



カルバペネマーゼ遺伝子		カルバペネマーゼ以外のβ-ラクタマーゼ遺伝子	
IMP型	-	CTX-M-1 group	-
NDM型	-	CTX-M-2 group	-
KPC型	-	CTX-M-9 group	-
OXA-48型	-	MOX型	-
VIM型	-	CIT型	-
GES型	-	DHA型	-
IMI型		ACC型	-
KHM型		EBC型	-
SMB型		FOX型	-

カルバペネマーゼ遺伝子PCRとディスク法はどちらも陰性

mCIMは、カルバペネマーゼ産生が示唆

→ 地方衛生研究所での菌種再同定の結果

Aeromonas hydrophila

(腸内細菌科細菌ではないがCREと間違えられやすい)

結果に疑問がある場合、コンタミや菌種誤同定の可能性あり

その他、CRE検査に関する参考情報

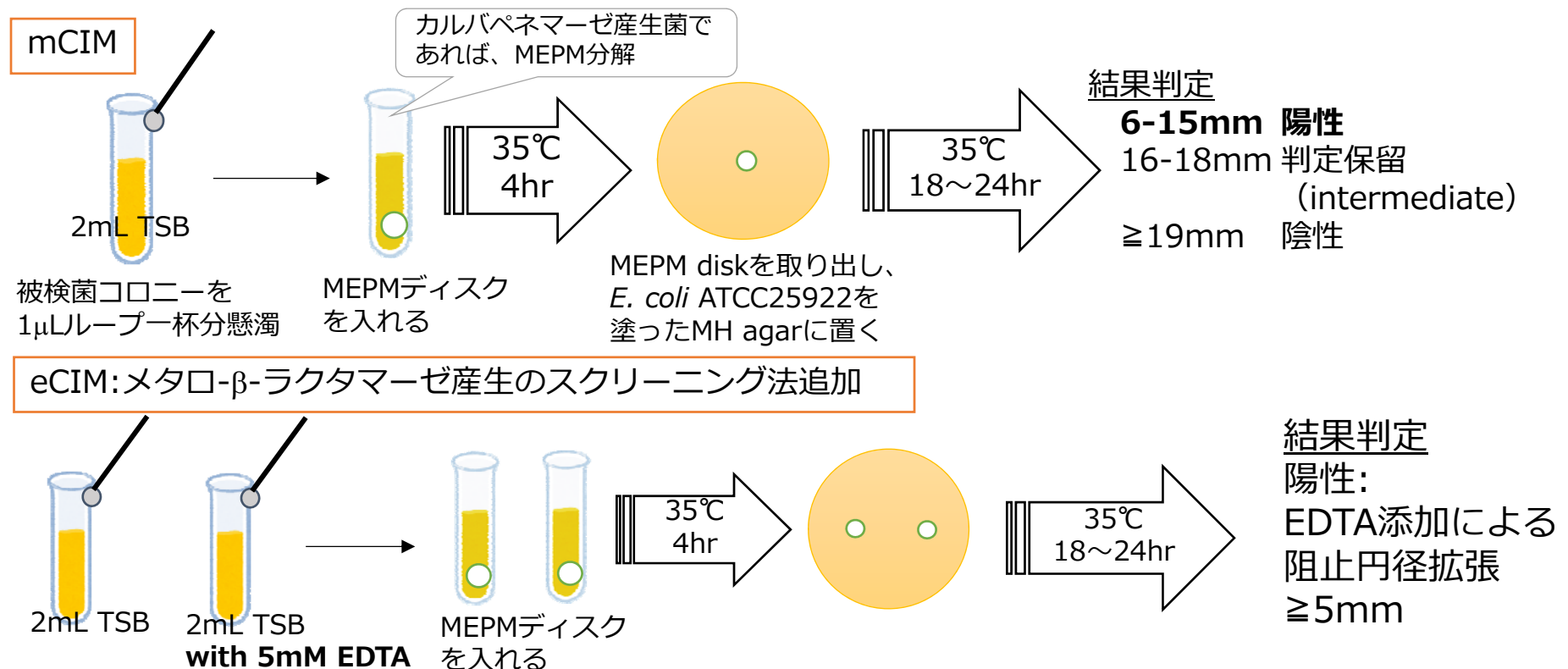
- 菌種名の変更

Enterobacter aerogenes ⇒ *Klebsiella aerogenes*

医療機関からの届出菌種名が少しずつ変更されるのではと思います

参考文献：*Int J Syst Evol Microbiol* 2017,67(2):502-404

- eCIMの報告：Carbapenem inactivation method (CIM) の変法
(CLSI M100, 2018に掲載)



まとめ

- 研修
 - ⇒ 参加希望は各ブロックのレファレンスセンターまで
- 陽性コントロールDNA・陽性コントロールDNA配布
 - ⇒ 研修後にDNA一斉配布予定
 - 個別依頼は taiseikin@niid.go.jp へ
- 病原体検出マニュアル
 - ⇒ 平成30年度に改訂予定
 - (改訂時はレファレンスセンターを通じて連絡)
- NESID入力結果
 - ⇒ 順次、精度管理・集計予定
- 薬剤耐性菌検査等に関するお問い合わせ
 - taiseikin@niid.go.jp
 - 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター第一室